

## Methods for removing pollutants from contaminated soil materials with a fern plant

**Publication number:** JP2002540943T

**Publication date:** 2002-12-03

**Inventor:**

**Applicant:**

**Classification:**

- international: **A01H9/00; B09B3/00; B09C1/10; C02F3/32; C12N15/82; C22B3/18; C22B30/04; A01H9/00; B09B3/00; B09C1/10; C02F3/32; C12N15/82; C22B3/00; C22B30/00; (IPC1-7): B09C1/10; B09B3/00; C02F3/32**

- european: **A01H9/00; B09C1/10P; C02F3/32B; C12N15/82C4B; C12N15/82C4E; C22B3/18; C22B30/04**

**Application number:** JP20000610870T 20000411

**Priority number(s):** US19990129203P 19990414; US19990471566 19991223; WO2000US09615 20000411

**Also published as:**



WO0061822 (A1)

US6280500 (B1)

**Report a data error here**

Abstract not available for JP2002540943T

Abstract of corresponding document: **US6280500**

The subject invention provides materials and methods for remediating soil and/or water which has been contaminated with arsenic, phosphorous, or other metals. In a preferred embodiment, the subject invention provides fern plants which accumulate arsenic from contaminated soils. The fern plants efficiently remove arsenic from the soil. The fern plants can be harvested and readily disposed of, or can be treated to recover arsenic.

---

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

## (12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号  
特表2002-540943  
(P2002-540943A)

(43) 公表日 平成14年12月3日 (2002. 12. 3)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	サーチコード* (参考)
B 0 9 C 1/10	Z A B	C 0 2 F 3/32	4 D 0 0 4
B 0 9 B 3/00		B 0 9 B 3/00	Z A B E 4 D 0 4 0
C 0 2 F 3/32			A

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 46 頁)

<p>(21) 出願番号 特願2000-610870(P2000-610870)</p> <p>(86) (22) 出願日 平成12年4月11日(2000. 4. 11)</p> <p>(85) 翻訳文提出日 平成13年10月15日(2001. 10. 15)</p> <p>(86) 国際出願番号 PCT/US 0 0 / 0 9 6 1 5</p> <p>(87) 国際公開番号 WO 0 0 / 6 1 8 2 2</p> <p>(87) 国際公開日 平成12年10月19日(2000. 10. 19)</p> <p>(31) 優先権主張番号 6 0 / 1 2 9 , 2 0 3</p> <p>(32) 優先日 平成11年4月14日(1999. 4. 14)</p> <p>(33) 優先権主張国 米国 (U S)</p> <p>(31) 優先権主張番号 0 9 / 4 7 1 , 5 6 6</p> <p>(32) 優先日 平成11年12月23日(1999. 12. 23)</p> <p>(33) 優先権主張国 米国 (U S)</p>	<p>(71) 出願人 ユニバーシティ・オブ・フロリダ UNIVERSITY OF FLORIDA アメリカ合衆国フロリダ州32611-5500・ ゲインズビル・ピーオーボックス 115500・グリーンターホール 223・リサーチ チアンドグラデュエートプログラム</p> <p>(72) 発明者 レナ、キュー・マー アメリカ合衆国フロリダ州32605・ゲイン ズビル・ノースウエストウエンティファ ーストドライブ 4613</p> <p>(74) 代理人 弁理士 大島 陽一</p>
--	--

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 シダ植物を用いて汚染土壌物質より汚染質を取り除く方法

## (57) 【要約】

本発明は、ヒ素、リン、若しくはその他の金属で汚染された物質をファイトレメディエーションするためのプロセス及び物質を提供する。好適な実施例では、本発明は汚染物質よりヒ素を蓄積するシダ植物を提供する。シダ植物は物質から効果的にヒ素を取り除く。シダ植物は収穫され容易に廃棄され、また処理されヒ素を回収することが可能である。

【特許請求の範囲】

・【請求項1】 汚染された物質より汚染質を取り除くためのプロセスであって、前記プロセスが、  
前記物質上でシダ植物を生長させる過程を含み、  
それによって前記シダ植物が前記物質より前記汚染質を取り除くことを特徴とするプロセス。

【請求項2】 前記汚染質が、ヒ素であることを特徴とする請求項1に記載のプロセス。

【請求項3】 前記汚染質が、金属、微量元素、及びリン含有物を含む一群より選択されることを特徴とする請求項1に記載のプロセス。

【請求項4】 前記汚染質が、ヒ素、リン、鉛、金、セレンウム、銅、カドニウム、クロム、ニッケル、及び亜鉛を含む一群より選択されることを特徴とする請求項1に記載のプロセス。

【請求項5】 前記汚染質が、少なくとも1つの有機化合物及び無機化合物と関連していることを特徴とする請求項1に記載のプロセス。

【請求項6】 前記物質が、土壌、堆積物、廃棄物、及び水を含む一群より選択されることを特徴とする請求項1に記載のプロセス。

【請求項7】 前記物質が、土壌であることを特徴とする請求項6に記載のプロセス。

【請求項8】 前記物質が、堆積物であることを特徴とする請求項6に記載のプロセス。

【請求項9】 前記物質が、廃棄物であることを特徴とする請求項6に記載のプロセス。

【請求項10】 前記物質が、水であることを特徴とする請求項6に記載のプロセス。

【請求項11】 ヒ素が、乾燥重量ベースにしておよそ100mg/kgを超える量で前記植物中に蓄積することを特徴とする請求項2に記載のプロセス。

【請求項12】 ヒ素が、乾燥重量ベースにしておよそ1000mg/kg

2)  $g$ を超える量で前記植物中に蓄積することを特徴とする請求項11に記載のプロセス。

【請求項13】 ヒ素が、乾燥重量ベースにしておよそ $10000\text{mg}/\text{kg}$ を超える量で前記植物中に蓄積することを特徴とする請求項11に記載のプロセス。

【請求項14】 ヒ素が、前記ヒ素が取り除かれる前記物質中のヒ素濃度と比較して、少なくともほぼ2倍高い濃度まで前記植物中に蓄積することを特徴とする請求項2に記載のプロセス。

【請求項15】 前記植物中に蓄積するヒ素の前記濃度が、前記ヒ素が取り除かれる前記物質中の前記ヒ素濃度の少なくとも約10倍であることを特徴とする請求項14に記載のプロセス。

【請求項16】 前記植物中に蓄積するヒ素の前記濃度が、前記ヒ素が取り除かれる前記物質中の前記ヒ素濃度の少なくとも約50倍であることを特徴とする請求項14に記載のプロセス。

【請求項17】 前記植物中に蓄積するヒ素の前記濃度が、前記ヒ素が取り除かれる前記物質中の前記ヒ素濃度の少なくとも約100倍であることを特徴とする請求項14に記載のプロセス。

【請求項18】 前記ヒ素が取り除かれる前記物質中の前記ヒ素濃度が、およそ $5\text{mg}/\text{kg}$ より大きいことを特徴とする請求項2に記載のプロセス。

【請求項19】 前記ヒ素が取り除かれる前記物質中の前記ヒ素濃度が、およそ $50\text{mg}/\text{kg}$ より大きいことを特徴とする請求項18に記載のプロセス。

【請求項20】 前記ヒ素が取り除かれる前記物質中の前記ヒ素濃度が、およそ $100\text{mg}/\text{kg}$ より大きいことを特徴とする請求項18に記載のプロセス。

【請求項21】 前記ヒ素が取り除かれる前記物質中の前記ヒ素濃度が、少なくとも約 $500\text{mg}/\text{kg}$ であることを特徴とする請求項18に記載のプロセス。

【請求項22】 前記ヒ素が取り除かれる前記物質中の前記ヒ素濃度が、

およそ1000mg/kgより大きいことを特徴とする請求項18に記載のプロセス。

【請求項23】 前記シダ植物の少なくとも一部分が、収穫過程、廃棄過程、及び回収過程の少なくとも1つにかけられ、それにより前記汚染質が取り除かれることを特徴とする請求項1に記載のプロセス。

【請求項24】 前記少なくとも1つの収穫過程、廃棄過程、及び回収過程が、少なくとも1つの微生物処理、化学的処理、及び焼却を含むことを特徴とする請求項23に記載のプロセス。

【請求項25】 前記シダ植物の前記一部分が、葉 (leaf)、茎、葉 (frond)、及び根からなる一群より選択されることを特徴とする請求項23に記載のプロセス。

【請求項26】 前記シダ植物の前記一部分が前記葉 (fronds) であることを特徴とする請求項25に記載のプロセス。

【請求項27】 前記シダ植物がPteridaceae科であることを特徴とする請求項1に記載のプロセス。

【請求項28】 前記シダ植物がAdiantaceae属であることを特徴とする請求項27に記載のプロセス。

【請求項29】 前記シダ植物がA. raddianumであることを特徴とする請求項28に記載のプロセス。

【請求項30】 前記シダ植物がPteris属であることを特徴とする請求項27に記載のプロセス。

【請求項31】 前記シダ植物がP. mayiiであることを特徴とする請求項30に記載のプロセス。

【請求項32】 前記シダ植物がP. parkeriiであることを特徴とする請求項30に記載のプロセス。

【請求項33】 前記シダ植物がP. albolineataであることを特徴とする請求項30に記載のプロセス。

【請求項34】 前記シダ植物がP. vittataであることを特徴とする請求項30に記載のプロセス。

【請求項35】 前記プロセスが前記地面にて処理されることを特徴とする請求項1に記載のプロセス。

【請求項36】 前記プロセスが湿地帯にて処理されることを特徴とする請求項35に記載のプロセス。

【請求項37】 前記プロセスが温室にて実行されることを特徴とする請求項1に記載のプロセス。

【請求項38】 前記植物が水栽培で生長することを特徴とする請求項1に記載のプロセス。

【請求項39】 前記物質が変化し得るpHを有することを特徴とする請求項1に記載のプロセス。

【請求項40】 前記物質が6.5より大きいpHを有することを特徴とする請求項1に記載のプロセス。

【請求項41】 前記pHが7.5より大きいことを特徴とする請求項40に記載のプロセス。

【請求項42】 前記pHが8.5より大きいことを特徴とする請求項40に記載のプロセス。

【請求項43】 前記プロセスが、更に前記汚染物質を蓄積する目的で、前記植物の能力を高める構成材料を前記物質へと添加する過程を含むことを特徴とする請求項1に記載のプロセス。

【請求項44】 前記構成材料が、pH調整、カリウム、窒素、リン、及びキレート化合物を含む一群より選択されることを特徴とする請求項43に記載のプロセス。

【請求項45】 前記pH調整が、石灰岩、ドロマイト、消石灰、酸化カルシウム、アルカリ性工業廃棄物（例えば灰及び汚泥）、及びリン灰岩を含む一群より選択されることを特徴とする請求項44に記載のプロセス。

【請求項46】 前記キレートが、EDTA、DTPA、NTA、クエン酸、及び蔞酸を含む一群より選択されることを特徴とする請求項44に記載のプロセス。

【請求項47】 前記物質よりの前記汚染質の前記除去が、更に前記物質

よりの汚染質の前記除去を改善する目的で前記物質の追加的な処理を含むことを特徴とする請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 4 8】 前記追加的な処理が、化学的処理、焼却、その他の植物を用いた処理、及び微生物を用いた処理を含む一群より選択されることを特徴とする請求項 4 7 に記載のプロセス。

【請求項 4 9】 物質中に存在する物質を再生するためのプロセスであって、前記プロセスが前記物質がシダ植物中に蓄積するような前記シダ植物を、前記物質上で生長させる過程を含むことを特徴とするプロセス。

【請求項 5 0】 前記物質が微小元素及び金属を含む一群より選択されることを特徴とする請求項 4 9 に記載のプロセス。

【請求項 5 1】 前記物質が金及びヒ素を含む一群より選択されることを特徴とする請求項 5 0 に記載のプロセス。

【請求項 5 2】 前記プロセスが更に微生物処理、化学的処理、及び焼却を含む一群より選択された少なくとも 1 つの過程を含むことを特徴とする請求項 4 9 に記載のプロセス。

【請求項 5 3】 前記シダ植物の収穫部分を有する組成物であって、前記シダ植物の一部が乾燥重量ベースで少なくとも約 1 0 0 m g / k g のヒ素濃度を有することを特徴とする組成物。

【請求項 5 4】 前記一部が、それ故、微生物処理、化学的処理、及び焼却を含む一群より選択された処理にかけられたことを特徴とする請求項 5 3 に記載の組成物。

【請求項 5 5】 シダ植物より得た生物学的物質で変更され、物質よりヒ素を取り除く改善された能力を前記変更された植物上で与えることを特徴とする植物。

【請求項 5 6】 シダ遺伝物質を用いて変化されてきた請求項 5 5 に記載の植物。

【請求項 5 7】 ヒ素含有物質のファイトレメディエーションの方法であって、前記物質中でシダ植物を生長させ、前記植物を収穫する過程とを含み、それによって前記物質のヒ素含有率を減少させること特徴とする方法。

## 【発明の詳細な説明】

### 【0001】

#### (技術分野)

本発明は、土壌、堆積物、廃棄物、及び水のような汚染物質より、ヒ素及びリンのような汚染物質を取り除くための、シダ植物を用いたファイトレメディエーションの組成及び方法に関する。本出願は、米国特許番号09/47 1,566 (1999年12月23日)の一部継続出願であり、米国特許番号60/129,203 (1999年4月14日)の仮出願の優先権を主張している。

### 【0002】

#### (背景技術)

ヒ素は、アメリカ及び諸外国に於ける、土壌、堆積物、廃棄物、及び水の主要な汚染物質である。土壌汚染は例えば農薬及び木材処理 (wood treatments) より生じる。ヒ素は有力な汚染物質であるだけでなく、発ガン性が既知であることからとりわけ危険である。目下、ヒ素によって汚染された用地を浄化するための、低コストで有効な方法は存在しない。

### 【0003】

農業及び工業プロセスに於けるヒ素の使用は、フロリダの複数の汚染用地という結果をもたらした。20世紀初旬、ヒ素が南部の牛の病原保有性のダニを駆除するべく殺虫剤の要素として用いられたことで、フロリダの牛飼いは北部の牛市場に売ることが可能となった。典型的にはヒ素五酸化物の形態であるヒ素が、銅／クロム／ヒ素木材保存薬プロセス (CCA) として知られている木材保存薬として、硫酸銅、ナトリウム若しくはカリウム重クロム酸塩と共に用いられた。これら双方のプロセスで、溢流及び漏洩よりもたらされる土壌汚染の危険が増大した。多くのそれらの用地に於けるヒ素のレベルは、数年間遊ばせた後であっても600mg/kgよりも高い。土壌に於ける典型的な濃度の幅は、0.1~40mg/kgであって平均濃度は5~6mg/kgである。フロリダの土壌に於けるヒ素の典型的な幅は0.01~50.6mg/kgである。

### 【0004】

殆どの土壌系に於いて、ヒ素はヒ酸塩が典型的に優勢な1つであるような多く



の形態で存在する。このような形態で、それは陽イオンを備えた不溶性の塩の形態及び土壌成分での吸着を含むリン酸塩に酷似する特性を有する。ヒ素は広いレンジの酸化状態（-3, 0, +3, 及び+5）を有するので、それは様々な形態の有機及び無機混合物を形成する能力を有する。典型的には7～9の高いpHの幅で、土壌中のヒ素は主として例えば $\text{AsO}_2^-$ 、 $\text{AsO}_4^{3-}$ 、 $\text{HAsO}_4^{2-}$ 、及び $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$ のような錯体酸化アニオンAs(V)からなる。低pH及び低Ehの土壌に於いて、主なヒ素の形態は亜ヒ酸塩（ $\text{H}_3\text{AsO}_3$ ）である。

#### 【0005】

ヒ素は通常全ての自然系にて微小レベルで見られるにも関わらず、より高い濃度では植物及び動物の双方に非常に毒性を有し得る。ヒ素の毒性効果は長い間知られている。ヒ素に対し動物を晒すことは、多くの家畜及び家庭動物のために唯一導入すべき毒性に於いて2番目である。動物中のヒ素中毒の殆どのケースは、汚染飼料の供給の結果として牛及び猫種に於いて起こる。その他の影響を受けるような種は、ヒ素殺虫剤によって処理されていたかもしれない場所に遭遇する馬や羊のような飼料を食する動物である。人間及び動物に対するヒ素の毒性効果は、特にミトコンドリアのような毒された固体細胞中で発生する相互作用と関連し得る。

#### 【0006】

ヒ素は、通常微量で全ての植物や木の種に自然に存在する。ヒ素に対する植物及び木の種の許容量は、種、土壌のタイプ、及び土壌中に存在するヒ素の形態によって変化する。これまでに、野菜及び果物の種の許容量を明らかにするべく分類スキームが明らかにされた（表A参照）。一般的に植物種に於けるヒ素の分布は共通の傾向に従う。典型的には根が、茎、葉、及び果実よりもより高濃度なヒ素を含み得る。幾つかの植物種は、植物の地面部分より上の部分に於いて高いヒ素を蓄積する能力を証明してきた。コヌカグサ属に於ける複数の種は、2.6%までのヒ素を含有する土壌より3460mg/kgまでのヒ素を蓄積する能力を有する。別の報告ではバイオマスに於ける1000mg/kgのヒ素までの蓄積を行うアメリカトガサワラ、と*Pseudotsuga menziesii*の能力を証明してきた。

おり、金、銀、及びその他の鉱石の生化学的指示薬としてこれらの木が用いられることを可能とする。

【0007】

【表1】

表1 栽培学作物のヒ素耐性	
耐性分類	作物種
高い耐性	アスパラガス、ジャガイモ、ニンジン、タバコ、デューベリー、ブドウ、アメリカアカミキイチゴ
中程度の耐性	オランダイチゴ、スイートコーン、テンサイ、カボチャ
低い耐性若しくは耐性なし	スナップエンドウ (snap pea)、ティマピーン、タマネギ、エンドウ、キュウリ、ムラサキウマゴヤシ

環境的ヒ素汚染は免疫系の有害な作用は勿論のこと、テラトゲン、発ガン物質、及び突然変異誘発要因としてのその生化学的活性に関係する。ヒ素汚染用地で明らかになる関係によって、様々な改善技術が開発されてきた。ヒ素で汚染された用地を改善するための方法は、in situ及びex situで働き得る。また様々な程度の複雑性、効果、及び費用を有する。効果的な技術の欠乏や、穴掘りに掛かる費用や土壌物質の埋め立て地の欠乏によって、このようなヒ素汚染用地を改善する努力はこれまで最小限のものであった。これらの改善方法は3つのグループに分けられ、それは化学的、物理的、及び生化学的改善方法である。

【0008】

生化学的改善方法の1つはファイトレメディエーションである。ファイトレメディエーションは、養分及び微量元素を蓄積する植物の能力を利用した生長技術である。ファイトレメディエーションは汚染された土壌を改善するべく植物を用いるプロセスである。典型的にはこのことは2つの方法の内の1つで行われ、1つはファイトスタビリゼーションによるものでありもう1つはファイトエクストラクションによるものである。ファイトスタビリゼーションで、植物は水による浸食及び風による浸食を減少させまた水による浸透及び地下水まで到達する汚染物質を減少させることで、汚染された土壌を安定化させることに用いられる。ファイトエクストラクションは植物の取り込みを介して根圏より汚染物質を取り除くことを試みる。また汚染物質は根、葉、及び又は茎に蓄積される。植物材料は

その時収穫され、汚染物質は植物バイオマスより再生され、若しくは有害汚染施設で処分される。

#### 【0009】

現在、或る植物が、金属、半金属、石油成分、農薬、及び産業廃棄物によって汚染された土壌系及び水系を改善するのに用いられ得るように認知されてきた。また多くの植物種が、鉛、セレンウム、ニッケル、亜鉛、及びその他の金属を蓄積させるように認識されてきた。例えば米国特許第5,364,451号及び第5,711,784号では、金属含有土壌のファイトレメディエーションに関する記述がある。

#### 【0010】

汚染された用地の改善及び／又は貴金属の回収のために、ファイトエクストラクションが魅力的な選択であっても良い。ファイトエクストラクションは改善を目的とし、植物の根を介して系より汚染物質を取り除くプロセスである。元来、ファイトエクストラクションという言葉は土壌より微量元素を取り除くことに用いられた。が、近年新しいアプリケーションがこの目的のために発見されている。ファイトエクストラクション最も新しい使用の1つは例えば金やニッケルのような実利的価値の微量元素を蓄積することに用いてきた（ファイトマイニング）。

#### 【0011】

複数の状況で、土壌改良剤及びキレート剤が、植物の生長及び植物による微量元素の蓄積を補助するべく用いられ得る。土壌は、低いpHでエアレーションに乏しく、不適切な土壌構造で塩度が高い等の特徴を有してもよい。これらのことを克服するために、栽培学的技術が植物の栽培可能性を増加させるべく用いられてもよい。それらは、若干の例を挙げると、有機物質、石灰漬、肥沃化の付加物を含む。或る状況で、土壌改善の付加物は植物が蓄積し得る汚染物質の量を減少させるが、このことは生産されるバイオマスに於ける増加によって典型的に相殺される。

#### 【0012】

多くの土壌汚染物質のために、キレート剤若しくは有機酸が植物によるそれらの蓄積を補助するべく要求される。多くの微量元素及び放射性核種の低い溶解度

は、しばしば植物による金属抽出の制限因子である。例えば土壌中の鉛は限界の溶解度を有し、有機物質を備えた錯体、泥及び酸化物の吸着、炭酸塩、水酸化物、及びリン酸塩としての析出等による、植物取り込みの低い生物学的利用能を有する。

#### 【0013】

この問題を解決するべく、金属キレート剤が添加され得る。典型的に、キレートは植物に対して微量養分を運搬するべく農業及び園芸学で用いられてきた。ファイトレメディエーションに於けるキレートの使用で、キレートは植物取り込みのための汚染物質の生物学的利用能を増加させるのに用いられる。しかしキレートの使用に伴う懸念も存在する。幾つかの状況に於いて、キレートは植物の生長に有害な影響を有するかもしれない。或る実験では、鉛を過剰に蓄積した植物がキレート剤、エチレンジアミン四酢酸（EDTA）が用いられる前に二週間に渡って汚染された土壌に於いて育てられた。一週間後、激しい障害に耐えた後、植物が回収された。ファイトエクストラクションのため鉛の生物学的利用能を増加させるべくEDTAを使用する別の実験は、共通の食物学植物でさえも鉛の蓄積の著しい増加を見せた。

#### 【0014】

植物の健康のかなりの障害の影響に加え、キレートの使用に関連する別の懸念が存在する。多くの関心が潜在的な地下水汚染物質で明らかになった。キレートの使用はまた改善過程の費用を増加させる。汚染された土地に於ける1トンの鉛の移動度を増加させるためには大凡1トンのEDTAを必要とするということを推定する人もいる。

#### 【0015】

本発明以前には、土壌に於けるヒ素濃度よりも植物中に於けるヒ素濃度の方がより高いような、汚染された土壌よりのそのバイオマスへの大量のヒ素を濃縮し得るように確認された植物の種は存在しなかった。また本発明に先立ちファイトレメディエーションに於けるシダ植物の使用の報告も存在しなかった。

#### 【0016】

（発明の要約）

問題の発明は汚染された物質より汚染物質を抽出することが可能なシダ植物の識別に関する。好適な実施例に於いては汚染物質はヒ素である。

【0017】

汚染物質は、これに限定するものではないが土壌、堆積物、廃棄物、及び水を含む物質より、植物のバイオマスに於いて汚染物質を蓄積させる本発明の植物で取り除かれ得る。このことは、これら植物が汚染物質を効果的に改善することに用いられ得るので都合の良いことである。

【0018】

好適な実施例に於いて、ヒ素蓄積シダ植物が本発明は汚染された物質からヒ素を取り除くことを特徴とする、ヒ素汚染用地のファイトレメディエーションのための方法を提供する。詳しくはChinese Ladder Brake fern (*Pteris vittata*)の使用がここで例証される。都合の良いことに、この種は、乾燥重量ベースで5000mg/k gまで又はそれを超えて、総合的な蓄積を行い得る。

【0019】

本発明のシダ植物は非常に高濃度でヒ素を蓄積する。植物の葉、茎、及び／又は根はその時回収され容易に処分される。それによって汚染された用地のヒ素含有量が減少される。代わりにヒ素は回収された植物より再回収される。

【0020】

本発明のシダ植物はファイトレメディエーションでの使用に多くの都合の良い特性を有する。例えばこれら植物は土壌よりのヒ素の抽出に於いて極めて効率的であり（極めて高いヒ素濃縮係数）、多くの環境で生長し、それらは大きなバイオマスを提供しながら素早く生長しまた容易に再生する。また都合の良いことにそれらは毎年植え替える必要のない多年性植物である。

【0021】

本発明の更なる目的及び利点は、現在の好適な実施例の詳細な記載、以下の例の詳細な記載、及び付随する図面によって明らかとなり得る。

【0022】

（好適な実施例の記述）

詳細に於いて本発明の明らかにされた実施例を説明する前に、本発明がその他

の実施例も可能であり得ることより、本出願に於ける特定の装置に限定されるものではないことをご理解頂きたい。またここで用いられる用語は記載を目的としたものであり、それに限定するものではない。

#### 【0023】

本発明は非常に高濃度でヒ素を蓄積する植物の識別法に関する。それらの植物はヒ素汚染用地を改善することに用いられ得る。植物は汚染された用地よりリンを含むものを取り除くべく、本発明に従って用いられてもよい。好適には本発明の改善方法に於いて用いられる植物はシダ植物である。本技術分野に於いて熟練したものであれば、様々な汚染物質を取り除くべく経験がなくともここで提供された技術でシダ植物を用いることができる。無機汚染物質は有機若しくは無機化合物と結合するか、さもなければ化学的な関係を有し得る。汚染物質は例えば銅、クロム、若しくはリンである。好適にはヒ素が取り除かれる。金属としては、例えば鉛、金、セリウム、銅、クロミウム、クロム、ニッケル、若しくは亜鉛であってもよい。好適にはヒ素が取り除かれる。汚染物質が取り除かれる物質はどのような汚染物質であってもよく、例えば土壌、堆積物、廃棄物、若しくは水のような固体若しくは液体形態として存在し得る。廃棄物には例えば建設及び取り壊しの破片、コンポスト、下水汚泥、灰、おが屑、若しくは再生されたスクリーン材料のように、そのもとに関係なく全ての種類の廃棄物が含まれる。水の例としてはこれに限定するものではないが地下水、地上水、流去水、若しくは下水が含まれる。汚染された湿地帯がこの技術を用いて処理されてもよい。

#### 【0024】

好適な実施例に於いて、本発明の方法はヒ素含有物質とシダ植物とを接触させること、及び物質よりヒ素を蓄積するべく植物のために適した条件の環境下で植物を維持することを含む。植物は或る時間に渡り用地で、その茎、葉、及び又は根にヒ素を蓄積するために植物にとって十分な条件下で維持される。植物は用地より収穫され処分される。

#### 【0025】

ヒ素“蓄積”シダ植物は、1つ若しくは複数の以下に続く活性を行うべくここに記述されたシダ植物の能力を引用する。活性とは即ち、(i) 土壌若しくは廃

・  
'棄物粒子及び／又は液体より根及び又はその他の組織へヒ素を運搬し、(i i)  
根バイオマスに対するヒ素の物理的及び又は化学的吸着、また(i i i)汚染さ  
れた物質よりのヒ素の到達の予防若しくは阻害がある。好適な実施例に於いてヒ  
素はシダの葉及び又は茎組織へと運搬される。リン“蓄積”植物はリンに関し1  
つ若しくは複数の上記の特性を有する。

#### 【0026】

ここで用いられるように、“シダ植物”の参照はシダ類(真正シダ)を含む。  
殆どのシダ植物は胞子を用いて再生する胞子体である。シダ植物は、生長する葉  
の下側若しくは典型的には唯一再生可能な構造として機能する分化された葉上の  
どちらかで胞子嚢の塊を提供する。Pteridales及びAspidiales及びPteridaceae  
、Adiantaceae、Aspleniaceae、Dryopteridaceae、又はOleandraceacの科のオー  
ダーのシダ植物がここで明確に例証される。明確に例証された属は、Adiantum、  
Asparagus、Asplenium、Cyrtomium、Didymochlaena、Dryopteris、Nephrolepis  
、Pteridium、Rumohra及びPterisである。PterisシダはBrakeシダとして知られ  
ている。Pterisシダの特殊な例としてはP. mayii、P. parkerii、P. albo-linea  
ta、またP. vittataがある。

#### 【0027】

本発明による重要なシダ植物は本技術分野に於いて熟練したもので有れば容易  
に識別可能である。シダ植物に対する有用な手引きとして、例えばLakela, Olga  
、Robert W. Longによる“Ferns of Florida, An Illustrated Manual and Ident  
ification Guide”[1976], Banyan Books, Miami, FL、Jones, David L.の“Ency  
clopedia of Ferns”[1987], Lothian Publishing Company PTY LTD: Snyder、  
Jr., Lloyd H.及びJames G. Bruceの“Field Guide to the Ferns and Other Pte  
ridophytes of Georgia”[1986] The University of Georgia Pressが含まれ、入  
手可能である。

#### 【0028】

都合の良いことに、本発明に於いて用いられるシダ植物は：(a)高いバイオ  
マスまで生長することが可能であり：(b)様々なagroclimatic状況での生長に  
適応し、(c)高濃度の培養に適応し、(d)交配、選別、突然変異生成、及び

／又は遺伝子の転写によって遺伝子操作を受けることができる。ここで表される良好な改善特性はフィールドの条件下であって、ここに記述されたようにフィールド条件の最適化によって改善されてもよく、また温室に於けるように制御された環境中の改善過程を実施することによって改善されてもよい。所与のシステムでのパフォーマンスを最適化するべく処理され得る条件には、pH、栄養素、水分、日光／日陰、またキレート、有機土壌改良及び微生物の接種を含む改善が含まれる。栄養素の添加のような（健康な植物を支持するため）最適化パラメータ及び（汚染物質の利用率を増加させるための）改善は、全てのシダ植物に適用され、ここでその他のものは唯一Brakeシダ植物に対して適用されるのみである。pHは、例えば石灰岩、ドロマイト、消石灰、燃焼石灰、アルカリ性工業廃棄物（例えば灰及びスラッジ）、及びリン酸岩石のような石灰漬物質を用いて6.5より大きくなるように調整される。基本的な多量要素及び微量元素は、また例えばN、P、K、Ca、Fe、Mn、及びCuのようなものを含んでもよい。Brakeシダ植物は日陰を避け、日光を好む耐寒性の植物であり、またそれは自由な排水を要求するが乾燥期間の吸水を認識する。加えて、エチレンジアミン四酢酸（EDTA）、ジエチレントリアミン五酢酸（DTPA）、ニトリロ三酢酸（NTA）、クエン酸、及び蔞酸、及び堆肥、下水スラッジ、又は微生物（菌類）のような追加が採用されてもよい。酸性環境（pH<6）及び過剰の塩（肥沃化を超えたもの）はシダ植物の生長に対して有害であり得る。

#### 【0029】

ここで例証されるシダ植物は汚染された用地よりヒ素を取り除くことに於いて高い有用性を持っている。代替実施例に於いて、シダ植物はそのファイトレメディエーション特性を改善及び／又は拡大するべく遺伝学的に操作されてもよい。Shoseyou等の米国特許番号6,008,092を参照して頂きたい。またここで参照したことにより本出願の一部とする。そのような特性とは例えばシダ植物の生長の速度、ヒ素の取り込み速度、植物の耐寒性であり得る。遺伝子的操作は例えば品種改良技術、突然変異生成、及び／又は遺伝子工学を介してもよい。関連する実施例に於いて、ヒ素を蓄積するシダ植物の能力に責を負う遺伝的要素が識別され、分離され、もし必要ならば別の植物種へと送られ、それによって有効なレベルで



ヒ素を蓄積させる能力を形質転換された植物へと授与する。代わりに微生物及び／又はヒ素取り除き過程に含まれる遺伝要素が分類され、使用されてもよい。

#### 【0030】

特殊な実施例に於いて、本発明はヒ素蓄積型シダ植物を提供する。Brakeシダ植物はその葉軸（茎）及び羽片（葉）に於いて乾燥重量で7.500mg/kgのヒ素までまたそれを超えて蓄積されることが明らかとなっている。植物が研究されてきた土壤に於けるヒ素濃度は19から1603mg/kgの幅を有する。このようにこの植物は汚染された土壤中と比較して植物組織中に於いてヒ素を約200倍まで濃縮する異常な能力を有する。都合の良いことに、本発明のシダ植物は、低濃度の汚染物質を有する土壤よりも汚染物質を取り除く。これは容認できるレベルまで汚染物質の濃度を低くするという本発明のプロセスのために重要である。

#### 【0031】

本発明の好適な方法には、そのバイオマス中にヒ素を蓄積させる為にそれらにとって十分な条件下で、それら植物の1つ若しくは複数の器官を生長させることを含む。“ヒ素”という言葉はまた、混合物若しくはヒ素及び有機若しくは無機化合物を有する化合物を含む。

#### 【0032】

そのような植物が導入されたヒ素含有環境は本発明の範囲を限定するものではない。環境がシダ植物の生長を持続させる限り、環境は純粋な水性環境（即ち水栽培培養）から、水の飽和度、有機物質含量、ミネラル含量、その他の塩化の程度が変化する土壤環境までの幅を有してもよい。都合の良いことにシダ植物は日向と日陰どちらでも生長し、また湿度が高い環境若しくは乾燥した環境のどちらかに於いても生長し得る。例えば本発明は湿地帯に於いて利用されてもよい。pHは約8-10の高さ若しくはそれより高くてもよい。本技術分野に於いて通常の技術を有するものであれば、“土壤”という言葉がそれ故広い範囲の化学的及び物理的形式を含むことが理解でき得る。それ故本発明によって汚染物質が除去され得る物質は土壤、堆積物、廃棄物、及び水を含む。

#### 【0033】

本方法に適切なヒ素蓄積シダ植物は、環境よりシダ植物の根へとヒ素を抽出する。寧ろ、植物はヒ素を根より苗条へと（即ち植物の地上部分に）転流させる。蓄積の速度は全体のヒ素濃度、土壌の種類、pH、湿気含有量、有機物含有量、土壌温度、植え付け密度、及び肥料の使用を含む様々な要素に依存して変化し得る。ここに提供された技術を用いて、熟練した技術者であれば特定のアプリケーションのための好適な状況を容易に選択し得る。

#### 【0034】

一般的に、好適なシダ植物による蓄積は環境中に存在するレベルの100倍若しくはそれを超えてもよい。最も好適なシダ植物の一部は苗条のバイオマス及び根のバイオマスの乾燥重量にして数%のヒ素を蓄積する。苗条若しくは根はその時回収される。苗条にヒ素を蓄積する本発明の植物の能力は、苗条が回収可能（即ち地上にある）バイオマスを表すことから重要である。苗条に於けるヒ素の蓄積は、植物が土壌に於いて生長する場合苗条と比較して、一般的に根を回収することが困難であるので好適である。しかし植物の何れの部分であっても潜在的に回収可能である。例えば、葉(leaf)、茎、葉(fond)及び根はシダ植物より回収されてもよい。

#### 【0035】

ヒ素で汚染された土壌に加えて、シダ植物サンプルは汚染されていない用地よりも収集され、その土地のヒ素濃度は0.5から7.6mg/kgである。それらの植物の葉（地上のバイオマス）に於けるヒ素濃度は12から64mg/kgの幅であり、最大の濃縮係数は136である。このことは本発明のシダ植物が高いヒ素レベルは勿論のこと低いヒ素レベルの土壌よりもヒ素を蓄積することを明瞭に説明する。

#### 【0036】

このように、シダ植物のヒ素濃縮ファクターは、汚染されていない土壌は勿論のこと汚染されている土壌に於いても自然の生長条件の下で観測される。本技術分野に於いてスキルを有するものは、現在の明細の利点をもって、植物の生長のための条件を最適化し汚染物質の取り込みを最適化する。ここで報告された取り込みはフィールドに於ける条件下であって例えば温室のような適切に調節された

環境に於いては増加してもよい。

【0037】

通常の植物に於けるヒ素の条件は、0.01から5mg/kgであって、平均すると2.5mg/kgとなる。そのような訳で、本発明のシダ植物はヒ素の毒性よりの被害を被ることなく、通常の植物の平均と比較して3000倍のヒ素を蓄積する。このことは、ヒ素が雑草を駆除するべく除草剤として用いられてきたことからわかるように、植物にとって極めて異常である。

【0038】

本発明のシダ植物は汚染された用地よりヒ素を取り除くための方法に於ける使用のために非常に都合の良いものである。それらのシダ植物 (*Pteris vittata*) は石灰岩表面から岩石森林地帯まで広がる幅広い土壌環境で生存可能である。それらシダ植物はまた比較的大きなバイオマスを有しており、例えばそれらシダ植物はブレードが25-60cmの長さで13-25cmの幅を備えた全長30-90cmの葉 (frond) を提供してもよい。またシダ植物は、たった1つの植物から数万の再生を容易に行い得る。ヒ素によって汚染された土壌に一度植え付けられれば、本発明のシダ植物はそれらが多年性の植物であるので毎年育ち、即ちシダ植物は再び種を蒔く若しくは植え替えることを必要とせず用地が浄化されるまで毎シーズン回収されてもよい。

【0039】

特殊な実施例に於いて、本発明はヒ素を蓄積するChinese brakeシダ植物 (*Pteris vittata*) に関する。サンプルが採取される土壌に於けるヒ素濃度の平均は394mg/kgであり、最も高い濃度は1603mg/kgである。葉、茎、及び根に於ける8つの植物サンプルより採取したヒ素濃度の平均は、各々4359、1824、1758mg/kg (乾燥重量) であり、最も高かったヒ素の濃度は葉中に於ける7526mg/kgであった。ヒ素濃度の平均を基にして、シダ中に於けるヒ素濃度は典型的には土壌に於けるその少なくとも5倍以上である。この植物はヒ素で汚染された土壌よりヒ素を抽出することに対して高い有用性を有し、すなわち土壌を浄化する。

【0040】

本発明のヒ素蓄積シダ植物は全国的及び世界中の数万のヒ素汚染土壌を改善することに用いられ得る。フロリダだけで1万にせまるヒ素汚染用地が存在する。この技術は費用効果を有しておりまた環境に優しく、ヒ素に汚染された用地を浄化しなければならない人であれば誰でも用いることができる。改善は用地でin situで行われ、より調整された系のために物質を別の場所へと取り除くことでex situで行われてもよい。シダ植物が回収された時、ヒ素、リン含有物、若しくはその他の金属は回収され、本技術分野に於いてスキルを有するものが知り得る方法を用いて処理され得る。処理若しくは回収ステップは、例えば微生物処理、化学的処理、焼却、又はその他の植物による処理などを含んでもよい。それらの方法は更にガス化装置の使用も含んでもよい。

#### 【0041】

この技術がヒ素汚染環境に適応され得る特殊なアプリケーションは次のものを含む。

#### 【0042】

##### 1 温室中のヒ素汚染土壌の浄化

ヒ素除草剤はフロリダ、ニューヨーク、ジョージア州等を含む複数の州に於いて現在も用いられている。結果として温室に於ける多くの土壌がヒ素によって汚染され、浄化される必要がある。

#### 【0043】

##### 2 ヒ素汚染地下水若しくは地表水の浄化

ヒ素で汚染された地下水若しくは地表水が、ヒ素がシダ植物によって取り込まれまた地下水が浄化されるように、シダ植物が生長する地面へ灌漑され得る。

#### 【0044】

##### 3 有機物質及びヒ素の双方によって汚染された土壌の浄化

シダ植物（ヒ素及びリンの取り込み）及びポプラの木（有機汚染物質の減成補助）の双方が混合汚染用地の浄化のために用地に導入されてもよい。

#### 【0045】

##### 4 鉛及びヒ素の双方によって汚染された土壌の浄化

シダ植物（ヒ素及びリンの取り込み）及びインド芥子（鉛の取り込み）の双方

が、複合的に汚染された用地を浄化するべく用地に導入されてもよい。

・ 【0046】

5 ヒ素で汚染された湿地帯の浄化

シダ植物は、湿地帯環境に於いてヒ素及びリンの両方を取り込むべく導入されてもよい。

【0047】

6 廃水処理

シダ植物は廃水よりヒ素を取り除くべく、廃水が灌漑のために用いられるような場所で育てられてもよい。

【0048】

7 廃棄物の処理

シダ植物は物質を浄化するべく、ヒ素で汚染された廃棄物質中で直接育てられてもよい。

【0049】

特殊な実施例に於いて、本発明はシダ植物がそのバイオマス中に於いて物質より汚染物質を蓄積するに十分であり、即ちシダ植物の空気乾燥されたバイオマスの少なくとも1%が汚染物質であるような条件の下で、汚染物質を含む物質中にて栽培されたシダ植物を含む汚染物質をファイトレメディエーションする方法に関する。シダ植物はその時収穫され、汚染物質はバイオマスより回収される。好適には、物質は植物バイオマス及び汚染物質の生物学的利用能を増加させるべく最適化された栄養レベルまで調整される。下水、スラッジ、及び堆肥はシダ植物の生長を促進させるべく添加されてもよい。汚染物質は、環境的に関係し、これに限定するものではないが、ヒ素、リン及びその他の栄養元素、及び重金属も有する有機及び無機汚染物質を含む。

【0050】

(実施例の簡単な説明)

実施例1は、用地の特性及び植物解析に関する。(表2)

実施例2は、CCA汚染用地からの植物バイオマス中のヒ素、銅、クロムの蓄積及び分布に関する。(表3及び4)

実施例 3 は、(P vittata) を用いたヒ素汚染用地のファイトメディエーションに関する。(表 4)

実施例 4 は、汚染または非汚染用地に於けるヒ素蓄積植物 (P vittata) の有効性に関する。(表 5-8)

実施例 5 は、ヒ素汚染用地よりヒ素を取り除く際の別のヒ素蓄積シダ植物の有効性に関する。(表 9-10)

実施例 6 は、異なるヒ素汚染土壌よりヒ素を取り除く際のBrakeシダ植物の有効性に関する。(表 11)

実施例 7 は、異なるヒ素汚染廃棄物よりヒ素を取り除く際のBrakeシダ植物の有効性に関する。(表 12)

実施例 8 は、水溶液中よりヒ素を取り除く際のBrakeシダ植物の能力に関する。(表 13)

実施例 9 は、異なるレベルのヒ素を含む人工的な汚染土壌よりヒ素を取り除く際のBrakeシダ植物の能力に関する。(表 14)

実施例 10 は、異なる種のヒ素を含む人工的な汚染土壌よりヒ素を取り除く際のBrakeシダ植物の能力に関する。(表 15)

実施例 11 は、Brakeシダ植物によるヒ素蓄積の際の成長及び時間の重要性に関する。

#### 【0051】

実施例 12 は、Brakeシダ植物によるCCA汚染土壌よりのリンの蓄積に関する (表 16-17)。

#### 【0052】

##### 例 1 用地の特性及び植物解析

用地報告：フロリダ中央部の廃棄CCA材木保存用地が研究のために選択された。この用地では、1952年より1962年までの間、ヒ素五酸化物、硫酸銅、及びクロム酸ナトリウム若しくはクロム酸カリウムの水溶液と共に、長さ50フィート、直径6フィートの円柱形の圧力処理された材木を処理してきた。この使用より、この用地はヒ素、銅、及びクロムによって重度に汚染された。この用地の平均濃度は、ヒ素361mg/kg、クロム138mg/kg、また銅67

mg/kgで量で存在した。

【0053】

土壌の特性：サンプルのグリッド (grid) は42フットプロット (foot-plot) による50よりなる。高レベルのヒ素汚染を表す2つのサンプルグリッドがサンプリングされた。3つの土壌サンプルが、バケットオーガーを用いて各々の用地より採取され代表試料を得るために混合された。土壌は空気乾燥され2.0mmの篩で篩い分けされ、使用前に完全に混合される。土壌のpHは1:2土壌/水比率で決定され、Fisher Scientific Accumet model 20 pH/conductivity meterで測定される。土壌有機物はWalkley-Black法で決定された。土壌物質解析は次のように行われる：大凡1.0gの空気乾燥された土壌が20mLのテフロン（登録商標）圧力消化容器中で測定され、10mLの濃硝酸が添加された。試料と試薬が混合され、シールされ、70PSIで10分間CEM MDS-2000マイクロウェーブ試料調整システムを用いて消化された (CEM 1991)。試料溶液はフィルターされ、100mLの最終的な体積まで希釈され、解析前に冷蔵庫中に予め洗浄されたポリエチレン容器中で保存される。銅、クロム、及びヒ素のための解析はPerkin Elmer SIMMA 6000 Simultaneous Multielement AA Spectrometerに於けるグラファイト炉原子吸収によって行われた。リン、カリウム、マグネシウム、鉄、アルミニウム、及びマンガンは、誘導結合プラズマ分光高度計 (IPC) によって決定された。ヒ素汚染土壌のためのこれら土壌特性は表2に於いて表されている。

【表2】

表2 フロリダ中央部のCCA-汚染用地の土壌特性 (mg/kg)													
試料用地	pH	OM	Al	Ca	Fe	P	K	Mg	As	Cu	Cr	Mn	Zn
値域	7.4- 7.6	0.5- 0.8%	1570- 5920	260- 37000	836- 3670	40- 820	30- 300	60- 1240	39- 1603	24- 252	50- 84	6- 251	8- 208
平均	7.5	0.65%	3421	6346	1765	193	84	241	361	138	67	45	101

【0054】

植物解析：植物組織試料が収集される。試料は洗浄され乾燥室で24時間乾燥されWilley millを用いて粉末にされた。大凡1.0gの乾燥樹木若しくは植物

の材料が20mLのテフロン（登録商標）圧力消化容器内で計量され10mLの濃硝酸と混合される。組織試料はCEM MDS-2000マイクロウェーブ試料調整システムを用い、各々40、80、及び120Psiで、5、8、及び10分間消化された（CEM 1991）。試料溶液は100mLの体積に希釈され、Perkin Elmer SIMMA 6000 Simultaneous Multielement AA Spectrometerを用いたグラフアイト炉原子吸収によって解析されるまで冷蔵庫中に保存された。植物組織に於けるヒ素の蓄積は土壌中のヒ素の存在レベルと比較された。このことは蓄積比率若しくはファイトレメディエーション係数として定義された。

#### 【0055】

次に、本発明を実行するための方法を示す更なる例が存在する。多くの例は上記のCCA汚染用地より採取された土壌物質を用い、それはCCA汚染土壌として参照され得る。これらの例は限定的に解釈されるべきではない。特に記述がない限り、全ての濃度は乾燥重量でmg/kgとして表現される。

#### 【0056】

##### 例2 シダ植物中のヒ素の蓄積

或る種のヒ素蓄積植物が識別された。Pteris vittataの種は乾燥重量にしてそのバイオマス中に4360mg/kgのヒ素を平均的に蓄積することが証明された（図3）。Brakeシダ植物は、銅（138mg/kg）及びクロム（67mg/kg）を許容しただけでなくそれら2つの金属を吸収するが、そのレベルはヒ素と比較すると低い。銅及びクロムのシダ植物中に於ける濃度は、一般的にその他の種の濃度と比較すると大きい。結果が表3に示されている。

【表3】

表3. CCA汚染立地より植物試料中のヒ素、銅及びクロムのレベル				
俗称	学名	ヒ素	銅	クロム
Southern Red Cedar	<i>Juniperus silicicola</i>	4.1	5.6-12	0.8-2.1
Sugarberry	<i>Celtis laevigata</i>	5.2	0.5-7.5	0.4-3.3
Mockernut Hickory	<i>Carva tomentosa</i>	9.9	3.6-7.5	0.7-6.3
White Mulberry	<i>Morus alba</i>	5.5	4.5-15	0.7-2.4
Mimosa	<i>Albizia julibrissin</i>	4.8	4.5-7.3	1.1-1.4
Box-elder	<i>Acer negundo</i>	9.2	10-14	0.9-1.9
Poinsettia	<i>Poinsettia heterophylla</i>	5.2	4.9-15	0.3-3.1
Common Ragweed	<i>Ambrosia artemisiiflora L.</i>	9.4	13-26	1.1-1.6
Goldenrod	<i>Solidaga sp.</i>	11.2	12-17	0.7-1.6
Beggartick	<i>Bidens alba L.</i>	8.0	7.1-15	0.5-2.1
Brake Fern	<i>Pteris vittata</i>	4,360	15-28	1.7-2.3



【0057】

P. vittataの2つの異なる採取が、特殊な植物部位でのヒ素の蓄積を決定するべくなされた。試料が採取され、洗浄され、前述したように乾燥された。乾燥した後、シダ試料は根、茎、及び葉の部分に分けられ、前述した方法で消化 (digest) された。

【0058】

結果が表4に与えられた。

【表4】

表4 P. vittata における植物部位別のヒ素分布 (mg/kg)			
コレクション	シダ植物部位	値域	平均
I	根	1152-3103	1758
I	茎	383-2800	1824
I	葉 (leaf)	902-7526	4359
II	葉 (frond)	3480-14540	9168

【0059】

根、茎、及び葉に於ける収集 I よりの平均濃度は、1758、1824、及び4359 mg/kg であった。

【0060】

例3 ヒ素汚染用地のファイトレメディエーション

フロリダ州に於けるヒ素に汚染土壌の改善のためのシダ植物の使用は、実行可能であり費用効果を有する技術である。P. vittataは、南アフリカ、アジア、日本、ニューギニア、及びオーストラリアに共通な外来種である。米国国内では、この種は、フロリダ、アラバマ、及びルイジアナ州に於いて確認されている。この種は幅広い土壌の状態で生育することが可能であり、多量の日光を受け、通常の土壌状態で、自由に排水できる環境に於いて生長することが好ましい。P. vittataは、石灰岩形成物、岩石モルタル、ロッキー森林地帯、運河の堤防及びしばしば乱れた用地にて生長していることが確認されている。ヒ素汚染土壌のファイトレメディエーションに用いられるために、何をもってそれらの種がそれ程望ましいとされるかという理由は、5～30 cmの長さの葉柄 (stipe) を備えた3

0～90cmの長さに生長する葉（frond）を有する著しい量の地上のバイオマスを生成するという事実である。最大の平均ヒ素蓄積が、この部分中である（平均の茎及び葉濃度が1824及び4359mg/kgである、図4参照）という事実が、レメディエーション計画のためにこの種の有用性を高める。葉に於ける平均的ヒ素濃度が、根に於ける濃度の2倍若しくはそれより大きいことが分かった。

【0061】

例4 汚染された用地及び汚染されていない用地に於けるヒ素蓄積植物（*P. vittata*）の有効性

表5－8に於いて示されるように、ヒ素を蓄積するシダ植物（*P. vittata*）は、汚染されている用地及び汚染されていない用地を含む様々な場所で発見される。

【表5】

表5 CAA汚染立地で生育するシダ植物中のヒ素濃度 (mg/kg)							
試料番号	ヒ素濃度				ヒ素濃縮係数		
	葉	根	茎	土壌	葉	根	茎
2	902	2474	2800	18.8	48	132	149
3	1605	1152	1387	104	15	11	13
5	4548	3103	2745	66.1	69	47	42
6	3186	1851	2222	1603	2	1	1
7	3810	2576	1998	954	4	3	2
8	6236	1299	383	62.4	100	21	6
9	7060	1607	1909	308	23	5	6
10	7526	使用不可	1152	38.9	193	使用不可	30
平均	4359	1758	1824	394	11	4	5

【表6】

表6 8週間後のCAA及び人工的に汚染された土壤中のシダ植物中のヒ素濃度 (mg/kg)

土壌のヒ素濃度 (mg/kg)	2週	6週	8週
調整土壌 (~6)	755	438	539
CCA 土壌 (~400)	3,525	6,805	5,519
50	5,131	3,215	4,120
500	7,849	21,290	13,961
1500	15,861	22,630	

【表7】

表7 8週間シダ植物を生育させた後のCAA及び人工的に汚染された土壤中のヒ素濃度 (mg/kg)

処理	2週	6週	8週	削減量 (%)
CCA 土壌	489	361	272	44.4
50	48.1	24.1	29.9	38.0
500	519	317	218	58.0
1500	1932	657	258	86.6

【表8】

表8 フロリダ大学の9ヶ所の異なった場所よりの非ヒ素汚染土壌物質 (mg/kg)

試料番号	ヒ素濃度		ヒ素濃縮係数	
	葉 (frond)	土壌	葉 (frond)	
1	64	0.47	136	
2	11.8	3.65	3	
3	13.28	1.68	8	
4	42.1	2.37	18	
5	38.4	2.84	14	
6	16.2	7.56	2	
7	45.1	2.95	15	
8	33.8	0.84	40	

【0062】

例5 ヒ素汚染土壌よりヒ素を取り除くその他のヒ素蓄積シダ植物の有効性

異なる属の様々なシダ植物が、記述のCCA汚染土壌及びヒ素濃度が50及び500mg/kgの2つの人工的な汚染土壌にて生育された。これらのシダ植物は、Brakeシダを除いて様々な土地の種苗場より購入され、それは我々の研究室に於いて孢子から栽培された。これらシダ植物の地上のバイオマスは、2、4及び8週の生育の後回収された。試料は回収され、洗浄され、乾燥され、消化され、前述したように解析された。結果は表9及び表10に示されている。その他のシダ植物種はまた、その地上のバイオマスに於いて多量のヒ素を蓄積することに対し効果的であるのだが、*P. vittata*程は効果的でないことが明らかである。このことは、*Pteris*属がヒ素汚染土壌よりヒ素を蓄積することに於いてより効果的であることを表す。

【表9】

表9 CAA (As=245mg/kg) 及び2ヶ所の人工的汚染土壌において生育する異なるシダ植物種の地上バイオマス中のヒ素濃度											
		地上のバイオマスにおけるヒ素濃度 (mg/kg)									
俗称	学名	As=245				As=50			As=500		
		wk0	wk2	wk4	wk8	wk2	wk4	wk8	wk2	wk4	wk8
Mayii	<i>Pteris mayyii</i>	0.54	270	2165	1268	3338	3802	2305	6617		4405
Parkerii	<i>parkerii</i>	1.10	86	2213	1114	2201	5626	3847	4995		2448
Albo-lineata	<i>Pteris Albo-lineata</i>	0.64	61	1355	2046	1542	1248	2036	2919		1445
Boston	<i>Nephrolepis exaltata</i>	0.46	9	33	28	22		85	3735		948
Autumn	<i>Dryopteris erythrosora</i>	0.36	19	18	20	165		154	1696		4767

【表10】

表10 8週間後、CAA(As=245mg/kg)及び人工的汚染土壌で生育する 異なるシダ植物種の地上バイオマスにおけるヒ素濃度				
俗称	学名	ヒ素濃度 (mg/kg)		
		Control	As=245	As=50
Brake	<i>P. Vittata</i>	1.12	465	71.9
Mayii	<i>P. Mayii</i>	0.81	300	594
Maidenhair	<i>Adiantum raddianum</i>	0.22	46.6	109
Silver Dollar	<i>Adiantum peruvianum</i>	0.26	34.4	63.9
Mahogany	<i>Didymochlaena trunctula</i>	0.19	17.6	64.7
Shield	<i>Dryopteris dilatata recurvata</i>	0.05	20.4	40.4
J. Holly	<i>Cyrtomium falcatum</i>	0.11	20.1	40.1
Asparagus	<i>Asparagus setaceus</i>	0.06	15.4	2.33
Sword	<i>Nephrolepis Cordifolia</i>	0.07	7.53	16.5
Leatherleaf	<i>Rumohra adiantiformis</i>	0.27	5.57	11.3
Bird's nest	<i>Asplenium nidus</i>	0.03	2.47	2.65
Foxtail	<i>Asparagus densiflorus</i>	0.16	0.12	0.02
Bracken	<i>Pteridium aquilinum</i>	0.86	3.41	--
Black stem	<i>Asplenium resiliens</i>	0.56	11.7	--

#### 【0063】

##### 例6 異なるヒ素汚染土壌よりヒ素を取り除くBrakeシダ植物の有効性

異なる汚染源よりのヒ素で汚染された土壌からヒ素を取り除く*P. vittata*の有効性が試された。Brakeシダ植物は、これに限定するものではないが、鉱山テールリング (mine tailing) 介した汚染、ヒ酸鉛、及びウシ専門獣医 (cattle dip v et) を含む全ての種類のヒ素汚染土壌よりヒ素を取り除くのに有効であることが明らかとなった。

#### 【0064】

Brakeシダ植物が2週間のみ土壌マトリクス中で生長し、しかしそれらはそれらの地上のバイオマス中で、文献中に報告されたその他の植物における5ppmよりも少ない、20.5から365mg/kgの著しい量のヒ素を蓄積し得たことを念頭に置いて頂きたい。

#### 【0065】

3つのソースよりのシダ植物が様々な実験に於いて用いられていることを指摘することが必要である。複数のシダ植物はCCA汚染用地及びフロリダ大学のキャンパスより採取され、我々の実験室より栽培されたそれらと比較してより成熟した根系統を有していた。例6(表11)に於いて用いられたBrakeシダ植物は、例5(表10)に於けるように孢子より我々の実験室で栽培されたものである。

例2（表3及び4）及び例4（表5）で用いられたシダ植物は、フロリダ州ArcherのCCA汚染用地よりのものであるが、例4（表6、7、8、及び9）に於けるそれはフロリダ大学のキャンパスより採取したものであった。同様の生長期間が付与された場合、より成熟した根を有するシダ植物がそうでないシダ植物と比較してより多くのヒ素を蓄積した。2週間の後、キャンパス（より生長した根を有するもの）より採取したシダ植物が、我々の研究室で栽培したシダ植物のそれ（75mg/kg：表11）よりもより多くのヒ素（3525mg/kg：表6）を蓄積し得た。例えば6－8週間のより長期の生長期間を付与される場合、実質更なるヒ素が前に実証されるように（表9）蓄積されてもよい。

#### 【0066】

生長期もまた、相違を生じさせることに注意して頂きたい。概ねより多いヒ素が、成長期ではないものと比較して成長期シダ植物によって相対的により早いペースで吸収された。表6（夏期生長期、6月～8月）及び表11（低生長期、2月～3月）に於けるBrakeシダ植物のヒ素蓄積の相違は、シダ植物の異なる生長にもまた帰因しうる。このような場合、我々がテストを行ってきたCCA土壌と比較して鉱山テールリング及びヒ酸鉛汚染土壌から、より多いヒ素がBrakeシダ植物で吸収されるという事実が顕著であった。このことはBrakeシダ植物がそのような有害環境に於いてのみ生存し得るだけでなく、また大量のヒ素を蓄積することが可能であったことを暗示する。

【表11】

表11 2週間(FP土壌に関しては例外として1週間)に渡り、ヒ素汚染土壌において生育させた <i>P.vittata</i> の地上のバイオマスにおけるヒ素濃度			
土壌名	汚染源	土壌レベル	植物レベル
NB-S1	鉱山捨石 (Mine tailing)	>500	184
NB-S2	鉱山捨石 (Mine tailing)	>500	365
NB-C3	鉱山捨石 (Mine tailing)	>500	192
NB-C5	鉱山捨石 (Mine tailing)	>500	325
FP-U1	Pb-ヒ素塩/果樹園	50	100
FP-U2	Pb-ヒ素塩/果樹園	50	76.9
CCA	木材処理用地	300	75.0
Dudley農場	家畜専門用地	50	20.5
調整	庭の土壌	0.8	0.57

#### 【0067】

例7 異なるヒ素汚染廃棄物よりヒ素を取り除くBrakeシダ植物の有効性

汚染された廃棄物よりヒ素を取り除く *P. vittata* の有効性についてテストされた。Brakeシダ植物が、全ての種類のヒ素汚染廃棄物、これに限定するものではないが、種々の灰、おが屑、種々の堆肥、及び再生遮蔽 (screened) 物質を含むものよりヒ素を取り除くことに於いて有効であることが明らかにされた。十分な時間を与えられた場合、より多いヒ素がBrakeシダ植物によって蓄積されてもよく、それは我々の研究室で栽培されたものでまた例5-11 (表10-15) に於いても用いられている。

【表12】

表12 2週間に渡り、ヒ素汚染廃棄物中で生長した後の <i>P. vittata</i> の地上のバイオマスにおけるヒ素濃度			
試料番号	廃棄物	廃棄物中のレベル	植物中のレベル
ヒ素10%	石炭／バイオマス灰	150	47.5
ヒ素	石炭／バイオマス灰	15	30.4
テクネチウム	製紙工場の木材の灰	1	25.3
おがくず10%	C C A 処理用材	1,000	76.0
おがくず	C C A 処理用材	10,000	163
RelCo	リサイクル堆肥	1	2.73
C&D	C&D 堆肥	1	1.35
RSM	再製スクリーン材料	1	0.29
調整	庭の土壌	0.8	0.57

【0068】

例8 水溶液よりヒ素を除去する溶液シダ植物の能力

水栽培実験が、土壌を含有しない水溶液中よりのヒ素の除去に於けるBrakeシダ植物の能力決定に用いられた。或るシダ植物 (当研究室で栽培されたもの) が、1 から 100 mg / kg の幅のヒ素濃度を有するHoagland栄養溶液 (25%の強さ、pH=7.5、3つの複製) 200 mL と共に容器に移された。20日間の後、シダ植物は回収され前述した方法でヒ素のために解析された。

【0069】

Brakeシダ植物が、濃度にして1から100 ppmのヒ素を含有する水溶液からのヒ素の除去に関し極端に効果的であったことは明らかである。Brakeシダ植物は殆どの植物を枯らし得る100 mg / kg のヒ素濃度に耐えるのみならず、

その地上のバイオマスに大量のヒ素（2700mg/kgまで）を蓄積する。殆どの汚染された土壤に於けるヒ素濃度は、水溶液中における100mg/kgを超過することはまれであり、このことはBrakeシダ植物が最も極度に汚染された土壤に於いて用いられ得ることを示唆する。このようなシダ植物に於ける地上のヒ素濃度はその根に於ける濃度の平均で5倍大きく、根と比較して地上のバイオマスを回収することがより容易であるので、この植物がヒ素汚染物質をファイトレメディエーションすることに関してより興味がそそられる。加えてヒ素はその最小の蓄積割合（AR）が>30でこのシダ植物の地上のバイオマス中に豊富にされ、即ち植物中のヒ素濃度がその水栽培水溶液に於けるその少なくとも30倍であった。しかし、ARはヒ素レベルが1から100mg/kgへと増加するにつれ105から30へと減少するので、ヒ素ARはマトリクス中のヒ素レベルの増加に伴い減少することが明らかだった。

【表13】

表13 20日後、1～100mg/kgのヒ素を含む水溶液よりのBrakeシダ植物によるヒ素蓄積					
ヒ素レベル (mg/kg)	植物中のヒ素レベル(mg/kg)		割合 地上/根	蓄積比	
	地上	根		地上	根
1	118	22.0	5.4	105	20
10	651	222	2.9	70	24
50	2,424	480	5.1	53	10
100	2,715	602	4.5	30	6.5

#### 【0070】

例9 異なったレベルのヒ素を含有する人工的汚染土壤よりヒ素を除去する際のBrakeシダ植物の能力

Brakeシダ植物が、水溶液中に於いて100mg/kgまでのヒ素に耐え得ることが明らかにされた。この実験は50から500mg/kgの幅を有する人工的な汚染土壤に於いて最大のヒ素濃度を決定する。或るシダ植物は1.5kgの土壤を有する8へと移植され（4回の反復試験）、12週間生長させた後回収され記述の方法によって解析される。



【0071】

Brakeシダ植物は土壤に於いて500mg/kgのヒ素に耐えるのみならず、相当量のヒ素を蓄積し、特にその地上のバイオマス（10536mg/kgまで）に蓄積する。土壤に添加されたヒ素は大抵水溶性である。シダ植物に於けるヒ素濃度は土壤に於けるヒ素濃度が増加するにつれ減少し、土壤のヒ素濃度が50から500mg/kgへと増加するにつれ、ヒ素蓄積割合が64から21へと減少する。明らかに、このシダ植物が高い濃度と比較して低い濃度に於いてヒ素を豊富にすることにより効果的であった。

【表14】

表14 12週間、人工的に汚染された土壤で生育させた後のBrakeシダ植物中のヒ素濃度				
処理 mg/kg	ヒ素濃度 (mg/kg)		蓄積比	
	根	地上	根	地上
調整 (1)	1.0	4.2	1.0	4.2
50	131	3,207	2.6	64
100	379	6,013	3.8	60
200	990	7,379	5.0	37
500	2,318	10,536	4.6	21

【0072】

例10 異なる種のヒ素を含有する人工的な汚染土壤よりのヒ素の除去に於けるBrakeシダ植物の能力

Brakeシダ植物が様々なソースより汚染された土壤からヒ素を蓄積し得ることが証明されてきた。この実験は、50mg/kgの異なる種のヒ素を加えられた人工的な汚染土壤でのヒ素の取り込みに於けるシダ植物の有効性を決定した。或るシダ植物は1.5kgの土壤を含む鉢に移植され（4回）、18週間生長させた後回収され記述の方法でヒ素解析された。

【0073】

Brakeシダ植物がこれに限定するものではないが表15に表記されており、過去（無機ヒ素）及び現在（有機ヒ素）で用いられた通常の農薬などを含む異なっ

またヒ素の種を取り込む点で効果的であった。このシダ植物はCa-Asの除去に関し最も有効であり、Al-As及びFe-Asの除去に関しては最も効果的でなかった。このことは、Ca-As、Na-As、及びK-Asと比較してより低い溶解度に関連し得る。

【表 15】

表15 18週間、人工的な汚染土壌 (As=50mg/kg) で生長させた後のBrakeシダ植物のヒ素濃度				
ヒ素種	ヒ素濃度 (mg/kg)		蓄積比	
	根	地上	根	地上
Control (I)	3.35	4.39	3.35	4.39
Ca-As (V)	190	2618	3.8	52
Ca-MMA	180	2212	3.6	44
Na-MMA	213	1771	4.3	35
Na-As (III)	390	1865	7.8	37
K-As (V)	373	1708	7.5	34
Na-As (V)	211	1665	4.2	33
Al-As (V)	178	315	3.6	6.3
Fe-As (V)	57.6	136	1.2	2.7

#### 【0074】

例6 Brakeシダ植物によるヒ素蓄積に於ける、生長及び時間の重要性

生長及び時間が、CCA汚染土壌 (As = 97.7 mg/kg, pH = 7.9) からのヒ素の取り込みに於けるBrakeシダ植物の有効性にどれ程影響を与えるかということが決定された。或るシダ植物が1.5 kgの土壌を有する鉢へと移植され (4回)、20週に渡る生育の後回収され、記述の方法でヒ素を解析された。

#### 【0075】

表6のデータとは異なり、Brakeシダ植物は2週間の間には著しい量のヒ素を吸収せず、そのことは遅い成長 (オフ生長期、10月~2月) 及び若い根 (我々の研究室に於いて栽培されたもの) の双方に帰因するとされても良い。しかし著しい量のヒ素が第8週までに吸収され、それは量にして6000 mg/kgであ

り、土壤に於ける量（97.9 mg/kg）の60倍以上であった。先に述べられた別の重要なポイントは、地上のバイオマスで蓄積されたヒ素が根のバイオマスに於いて蓄積されたそれよりも著しく多かったという点である。図1 A及び1 Bは、シダの生長及びCCA汚染土壌よりのヒ素の取り込みの比較を表している。

【0076】

例12 Brakeシダ植物によるCCA汚染土壌よりのリンの蓄積

シダの試料は、CCA汚染用地より採取されリンに関して解析された。ヒ素の蓄積に加えて、Brakeシダ植物はまた表16から17に示されるようにCCA汚染用地よりのリンの蓄積にも効果的であった。

【0077】

表16及び17に示されるように、Brakeシダ植物がリンの蓄積に効果的であるように示されている。

【表16】

表16 CCA用地よりの、土壌及びシダ植物におけるリン濃度(mg/kg)							
試料番号	リン濃度				濃縮係数		
	葉(leaf)	根	茎	土壌	葉(leaf)	根	茎
2	2,340	920	745	60	39	15	12
3	2,180	1,980	1,880	40	55	50	47
5	2,400	2,990	2,810	80	30	37	35
6	2,220	570	220	180	12	3	1
7	2,170	1,400	2,590	130	17	11	20
8	1,340	675	2,610	80	17	8	33
9	2,180	1,920	220	155	14	12	14
10	2,900	使用不可	3,220	820	4	使用不可	4

【表17】

表17 *P vittata* における植物部位によるリンの分布 (mg/kg)

シダ部位	値域	平均	濃縮係数
根	570-2990	1307	7
茎	220-2810	1631	8
葉 (leaf)	1340-2400	1851	10
土壌	40-820	193	

【0078】

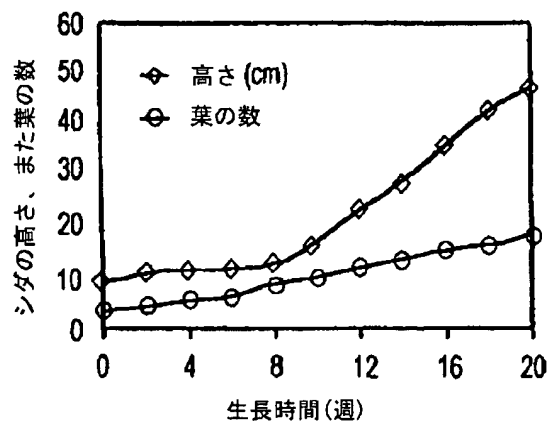
本発明は、記述され、明らかにされ、図示され、ある実施例若しくは補正の様々な用語で示されてきたが、その精神または主要な特徴から逸脱することなく、様々な実施態様を取りうる。その為、前述の実施例はあらゆる点で単なる例示に過ぎず、限定的に解釈してはならない。本発明の範囲は、特許請求の範囲によって示す物であって明細書本文には何ら拘束されない。更に、特許請求の範囲に属する変形や変更はすべて本発明の範囲内の物である。

【図面の簡単な説明】

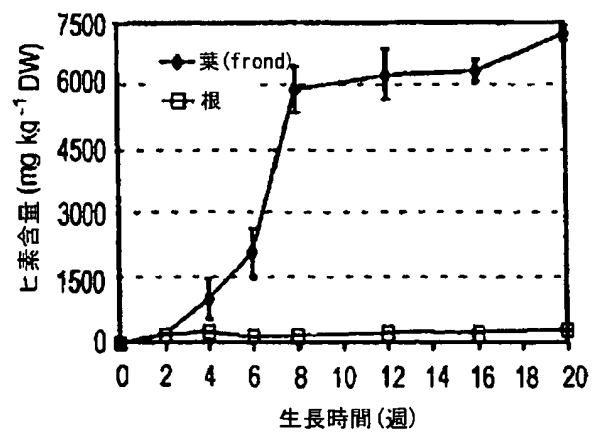
【図1A】 本発明の実施例11の成長時間に対するシダ植物の高さ若しくは葉の数のグラフである。

【図1B】 本発明の実施例11の成長時間に対するヒ素含有量のグラフである。

【図1A】



【図 1 B】



【手続補正書】特許協力条約第34条補正の翻訳文提出書

【提出日】平成13年7月22日(2001. 7. 22)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】発明の名称

【補正方法】変更

【補正の内容】

【発明の名称】 シダ植物を用いて汚染土壌物質より汚染質を取り除く方法

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 汚染された土壌物質より汚染質を取り除くためのプロセスであって、前記プロセスが、

前記土壌物質上でPteridaceae、Adiantaceae、Aspleniaceae、Dryopteridaceae、又はOleandraceaeを含む一群より選択されたシダ植物を生長させる過程を含み、

ヒ素、銅、及びクロムからなる一群より選択された前記汚染質を、前記シダ植物の前記バイオマスの乾燥重量ベースで少なくとも1%までファイトレメディエーションすることで前記シダ植物のバイオマス中に前記汚染質が蓄積し、それによって前記シダ植物が前記土壌物質より前記汚染質を取り除くことを特徴とするプロセス。

【請求項2】 前記汚染質が、ヒ素であることを特徴とする請求項1に記載のプロセス。

【請求項3】 前記土壌物質が、さらに、金属、微量元素、及びリンを含む一群より選択される追加汚染質を有することを特徴とする請求項1に記載のプロセス。

【請求項4】 前記追加汚染質が、リン、鉛、金、セレンウム、カドニウム、ニッケル、及び亜鉛を含む一群より選択されることを特徴とする請求項3に記載のプロセス。

【請求項5】 前記汚染質が、少なくとも1つの有機化合物及び無機化合物と化学的に関連していることを特徴とする請求項1に記載のプロセス。

【請求項6】 前記土壌物質が、前記土壌中の堆積物、前記土壌中の廃棄物、前記土壌中の灰、及び前記土壌中の水を含む一群より選択されることを特徴とする請求項1に記載のプロセス。

【請求項7】 前記土壌物質が、前記土壌中の前記堆積物であることを特徴とする請求項6に記載のプロセス。

【請求項8】 前記土壌物質が、前記土壌中の前記廃棄物であることを特徴とする請求項6に記載のプロセス。

【請求項9】 前記土壌物質が、前記土壌中の前記水であることを特徴とする請求項6に記載のプロセス。

【請求項10】 ヒ素が、乾燥重量ベースにして100mg/kgより多い量で前記植物中に蓄積することを特徴とする請求項2に記載のプロセス。

【請求項11】 ヒ素が、乾燥重量ベースにして1000mg/kgより多い量で前記植物中に蓄積することを特徴とする請求項10に記載のプロセス。

【請求項12】 ヒ素が、乾燥重量ベースにして10000mg/kgより多い量で前記植物中に蓄積することを特徴とする請求項10に記載のプロセス。

【請求項13】 前記ヒ素が、前記ヒ素が取り除かれる前記物質中の前記ヒ素濃度と比較して、少なくとも2倍高い濃度まで前記植物中に蓄積することを特徴とする請求項2に記載のプロセス。

【請求項14】 ヒ素の前記濃度が、前記ヒ素が取り除かれる前記物質中の前記ヒ素濃度の少なくとも10倍であることを特徴とする請求項13に記載のプロセス。

【請求項15】 ヒ素の前記濃度が、前記ヒ素が取り除かれる前記物質中の前記ヒ素濃度の少なくとも50倍であることを特徴とする請求項13に記載の

プロセス。

【請求項16】 ヒ素の前記濃度が、前記ヒ素が取り除かれる前記物質中の前記ヒ素濃度の少なくとも100倍であることを特徴とする請求項13に記載のプロセス。

【請求項17】 前記ヒ素が取り除かれる前記物質中の前記ヒ素濃度が、5mg/kgより大きいことを特徴とする請求項2に記載のプロセス。

【請求項18】 前記ヒ素が取り除かれる前記物質中の前記ヒ素濃度が、50mg/kgより大きいことを特徴とする請求項17に記載のプロセス。

【請求項19】 前記ヒ素が取り除かれる前記物質中の前記ヒ素濃度が、100mg/kgより大きいことを特徴とする請求項17に記載のプロセス。

【請求項20】 前記ヒ素が取り除かれる前記物質中の前記ヒ素濃度が、少なくとも500mg/kgであることを特徴とする請求項17に記載のプロセス。

【請求項21】 前記ヒ素が取り除かれる前記物質中の前記ヒ素濃度が、1000mg/kgより大きいことを特徴とする請求項18に記載のプロセス。

【請求項22】 更に前記シダ植物の少なくとも一部分より汚染質を取り除く過程を含み、前記取り除きが収穫過程及び廃棄過程、または収穫過程及び回収過程からなる一群より選択されることを特徴とする請求項1に記載のプロセス。

【請求項23】 前記シダ植物の前記一部分が、葉 (leaf)、茎、葉 (frond)、及び根からなる一群より選択されることを特徴とする請求項22に記載のプロセス。

【請求項24】 前記シダ植物の前記一部分が前記葉 (fronds) であることを特徴とする請求項23に記載のプロセス。

【請求項25】 前記シダ植物がPteridaceae科であることを特徴とする請求項1に記載のプロセス。

【請求項26】 前記シダ植物がAdiantaceae科であることを特徴とする請求項1に記載のプロセス。

【請求項27】 前記シダ植物がAdiantum raddianumであることを特徴と



する請求項 26 に記載のプロセス。

【請求項 28】 前記シダ植物が *Pteris* 属であることを特徴とする請求項 25 に記載のプロセス。

【請求項 29】 前記シダ植物が *Pteris mayii* であることを特徴とする請求項 28 に記載のプロセス。

【請求項 30】 前記シダ植物が *Pteris parkerii* であることを特徴とする請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 31】 前記シダ植物が *Pteris albo-lineata* であることを特徴とする請求項 28 に記載のプロセス。

【請求項 32】 前記シダ植物が *Pteris vittata* であることを特徴とする請求項 28 に記載のプロセス。

【請求項 33】 前記プロセスが地面 (field) にて処理されることを特徴とする請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 34】 前記プロセスが湿地帯にて処理されることを特徴とする請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 35】 前記プロセスが温室にて実行されることを特徴とする請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 36】 前記物質が 6.5 より大きい pH を有することを特徴とする請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 37】 前記物質が 7.5 より大きい pH を有することを特徴とする請求項 36 に記載のプロセス。

【請求項 38】 前記物質が 8.5 より大きい pH を有することを特徴とする請求項 36 に記載のプロセス。

【請求項 39】 前記プロセスが更に前記植え付けに先立ち、前記汚染質を蓄積する目的で、前記植物の前記能力を高める構成材料を前記土壌物質へと添加する過程を含むことを特徴とする請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 40】 前記構成材料が、pH 調整、カリウム、窒素、リン、及びキレート化合物を含む一群より選択されることを特徴とする請求項 39 に記載のプロセス。

【請求項41】 前記pH調整が、石灰岩、ドロマイト、消石灰、酸化カルベンウム、アルカリ性廃棄物、及びリン灰岩を含む一群より選択されることを特徴とする請求項40に記載のプロセス。

【請求項42】 前記キレートが、EDTA、DTPA、NTA、クエン酸、及び蔞酸を含む一群より選択されることを特徴とする請求項40に記載のプロセス。

【請求項43】 前記プロセスが更に前記植え込みに先立ち、前記物質よりの汚染質の前記除去を改善する目的で、前記土壌物質の処理過程を含むことを特徴とする請求項1に記載のプロセス。

【請求項44】 前記処理が、化学的処理、焼却、その他の植物を用いた処理、及び微生物を用いた処理を含む一群より選択されることを特徴とする請求項43に記載のプロセス。

【請求項45】 土壌物質中に存在する汚染質を再生するプロセスであって、

前記土壌物質上でPteridaceae、Adiantaceae、Aspleniaceae、Dryopteridaceae、又はOleandraceaeを含む一群より選択されたシダ植物を植え込む過程を含み、

ヒ素、銅、及びクロムを含む一群より選択される前記汚染質が、ファイトレメディエーションによって前記シダ植物のバイオマス中に蓄積し、

前記汚染質が、葉 (leaf)、茎、葉 (frond)、及び根を含む一群より選択される前記シダ植物の一部に蓄積すること特徴とするプロセス。

【請求項46】 前記土壌物質が、微小元素及び金属を含む一群より選択される追加的汚染質を含むことを特徴とする請求項45に記載のプロセス。

【請求項47】 前記追加的汚染質が金及びヒ素を含む一群より選択されることを特徴とする請求項46に記載のプロセス。

【請求項48】 前記プロセスが更に、微生物処理、化学的処理、及び焼却を含む一群より選択された少なくとも1つの過程を含むことを特徴とする請求項45に記載のプロセス。

【請求項49】 ヒ素含有土壌物質のファイトレメディエーションの方法

であって、

前記土壌物質中で、Pteridaceae、Adiantaceae、Aspleniaceae、Dryopteridaceae、又はOleandraceaeを含む一群より選択されるシダ植物を植え込み、前記シダ植物がファイトレメディエーションによってヒ素を集中して蓄積することを特徴とする過程と、

前記植物を収穫し、それによって前記ヒ素含有土壌物質がヒ素含有量を減少させる過程とを有する方法。


【請求項50】 銅及びクロムを含む一群より選択された汚染質を含む土壌物質をファイトレメディエーションする方法であって、

前記土壌中で、Pteridaceae、Adiantaceae、Aspleniaceae、Dryopteridaceae、又はOleandraceaeを含む一群より選択されるシダ植物を植え込み、前記シダ植物がファイトレメディエーションによって前記汚染質を集中して蓄積することを特徴とする過程と、

前記植物を収穫し、それによって前記汚染質含有土壌物質が汚染質含有量を減少させる過程とを有する方法。

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US00/09615

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC(7) : C21B 9/00; C22B 9/00; A01H 1/00, 9/00; A01G 31/00; C12N 15/82 US CL : 73/710, 711, 712; 210/602, 681, 682; 800/260, 278 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 75/710, 711, 712; 210/602, 681, 682; 800/260, 278 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Please See Extra Sheet		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5,000,852 A (TEL-OR et al) 19 March 1991 (19.03.1991), see entire document, especially columns 3-4.	1,3, 5-6, 10,
Y		2, 4, 7-9, 11-38
Y	US 5,320,663 A (CUNNINGHAM, S.) 14 June 1994 (14.06.1994), see entire document, especially columns 7-12.	1-42
Y	US 5,809,693 A (CHET et al) 22 September 1998 (22.09.1998), see entire document, especially columns 5-8	43-57
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" documents defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier document published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to underpin the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "Δ" document number of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 22 JUNE 2000		Date of mailing of the international search report 29 AUG 2000
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 305-3230		Authorized officer MEDINA A. IBRAHIM  Telephone No. (703) 304-0196

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)\*

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US90/09615

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Database CAPLUS, Accession No. 1985:575438, HO et al. 'Potential Use of a Roadside Fern ( <i>Pteris vittata</i> ) to Biomonitor Lead and Other Aerial Metal Deposition,' abstract, Bull. Env. Contam. Toxicol. 1985, Vol. 35, No. 4, pages 430-438, see Abstract.	1-57
Y	JORGENSEN, S. Removal of Heavy Metals from Compost and Soil by Ecotechnological Methods. Ecological Engineering. 1993, Vol. 2, see pages 89-100, especially page 89, 97.	1-57

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1998)\*

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US0009615

B. FIELDS SEARCHED

Electronic data bases consulted (Name of data base and where practicable terms used):

STN CAS, DIALOG, WEST 2.0

search terms: phytoremediation, phytorestriction, fern plant, Pteris vittata, arsenic, phosphorous, lead, gold, selenium, cadmium, chromium, nickel, zinc, sediment, waste

Form PCT/ISA/210 (extra sheet) (July 1998)\*

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZW

(72)発明者 ケン、エム・コマー

アメリカ合衆国フロリダ州32601・ゲインズビル・アパートメント 139・サウスウエストトウェンティシクスアベニュー  
111

(72)発明者 ケネリー、エリザベス・ディー

アメリカ合衆国フロリダ州32618・アーチャー・サウスウエストハンドレッドフィフティフォースストリート 11622

Fターム(参考) 4D004 AA41 CA17 CA28 CA34 CA47

CC20 DA03 DA10

4D040 CC01 CC07 CC09